

Влияние замораживания на адгезивные свойства *Escherichia coli* M17

Л.Е. ШАТИЛОВА, И.П. ВЫСЕКАНЦЕВ О.В. КУДОКОТСЕВА

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Effect of Freezing on Adhesive Properties of *Escherichia coli* M17

L.E. SHATILOVA, I.P. VYSEKANTSEV, O.V. KUDOKOTSEVA

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine
of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

В комплексной терапии дисбиоза кишечника и при лечении хронических кишечных инфекций и бактерионосительства у реконвалесцентов применяют пробиотические препараты на основе различных микроорганизмов, в том числе бактерий *Escherichia coli*. В настоящее время пробиотические препараты, содержащие *E. coli*, производят как правило на основе штаммов *E. coli* M17, «Nissle 1917». Также проводят скрининг новых штаммов бактерий, отвечающих возросшим требованиям к бактериальным препаратам. Интенсивно развиваются технологии производства аутопробиотических штаммов. Среди комплекса биологических характеристик, по которым проводят отбор пробиотических штаммов микроорганизмов, одним из ключевых признаков является адгезивная активность, обеспечивающая формирование колонизационной резистентности макроорганизма.

Для хранения штаммов *E. coli*, выделенных из различных биотопов, часто используют криоконсервирование. Влияние криоконсервирования на поверхностные структуры бактериальных клеток, участвующие в сложных процессах адгезии, изучено мало.

В работе изучали жизнеспособность и адгезивную активность бактериальных клеток *E. coli* M17 после криоконсервирования в различных средах – ростовой среде М9, 5%-м растворе ДМСО, 1 и 2%-х растворах альгината натрия. Образцы замораживали погружением криопробирки «Nunc» в жидкий азот.

Максимальное количество жизнеспособных клеток наблюдали после замораживания в 5%-м растворе ДМСО (75%). В остальных образцах жизнеспособность была достоверно ниже, достигая минимума в среде М9.

Средний показатель адгезии (СПА) бактерий к энтероцитам белых лабораторных мышей после криоконсервирования во всех образцах был ниже по сравнению с контролем. Значения СПА после криоконсервирования в зависимости от криоконсервирующей среды снижались по ряду: среда М9, 1- и 2%-й растворы альгината натрия, 5%-й раствор ДМСО.

Полученные результаты свидетельствуют о различиях в криоповреждениях структур клеток *E. coli*, замороженных в различных криоконсервирующих средах. Если летальные повреждения клеток были минимальными при их замораживании в 5%-м растворе ДМСО, то криоповреждения пилей, изменения архитектоники белков и липополисахаридов наружной мембраны были максимальными при сохранении жизнеспособности клеток. Следует обратить внимание на криозащитные свойства альгината натрия, обеспечивающие относительно высокие показатели жизнеспособности и адгезивной активности бактерий после замораживания-отогрева.

Probiotic preparations based on different microorganisms including bacteria *Escherichia coli* are used in combined therapy of bowel dysbiosis and treatment of chronic bowel infections and bacteria carriers in survivors. Nowadays probiotic preparations containing *E. coli* are produced commonly on the base of strains *E. coli* M17 Nissle 1917. Screening of new bacteria strains matching the increased requirements to bacteria preparations is performed. The production technologies of autoprobiotic strains are intensively developed. Within the complex of biological characteristics, according to which the selection of microorganisms probiotic strains is performed, one of the essential features is an adhesive activity providing the formation of colonization resistance of macroorganism.

Cryopreservation is often used for storage of *E. coli* strains isolated from different probiotics. Cryopreservation effect on surface structures of bacterial cells participating in complicated adhesion processes has been studied insufficiently.

In the work we studied the viability and adhesive activity of bacterial cells *E. coli* M17 after cryopreservation in different media, growth medium М9, 5% DMSO solution, 1 and 2% sodium alginate solutions. The samples were frozen by plunging the Nunc cryovial into liquid nitrogen.

Maximal number of viable cells was observed after freezing in 5% DMSO solution (75%). In other samples the viability was significantly lower achieving the minimum in medium М9.

Average adhesion index (AAI) of bacteria to the enterocytes of laboratory white rats after cryopreservation in all the samples was lower if compared to the control. Indices of AAI after cryopreservation depending on cryopreservation medium decreased in the range: medium М9, 1 and 2% sodium alginate solutions, 5% DMSO solution.

The obtained results testify to the differences of cryodamages in the structures of *E. coli* cells frozen-thawed in various cryopreservation media. Lethal damages of cells were minimal after freeze-thawing in 5% DMSO solution, however, the cryodamages of pili, changes of protein and external membrane lipopolysaccharides' architectonics were maximal even then the cell viability was preserved. The attention should be paid to cryoprotective properties of sodium alginate providing the relatively high indices of viability and adhesive activity of bacteria after freeze-thawing.